

受賞対象論文

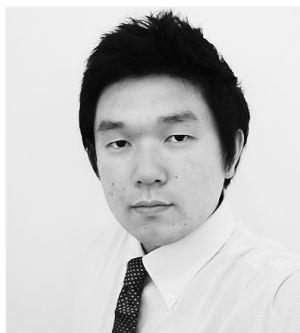
Fujimura A, Michiue H, Cheng Y, Uneda A, Tani Y, Nishiki T, Ichikawa T, Wei FY, Tomizawa K, Matsui H : Cyclin G2 promotes hypoxia-driven local invasion of glioblastoma by orchestrating cytoskeletal dynamics. *Neoplasia* (2013) 15, 1272-1281.

藤村 篤 史

Atsushi Fujimura

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 細胞生理学

Department of Physiology, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences



<プロフィール>

昭和58年生まれ

平成21年3月 岡山大学医学部医学科卒業

平成21年4月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科入学
岡山大学病院初期臨床研修開始

平成23年3月 岡山大学病院初期臨床研修修了

平成24年9月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科博士課程修了

平成25年2月 日本学術振興会海外特別研究員（イタリア・パドヴァ大学）

研究の背景と経緯

悪性脳腫瘍（以下では glioblastoma, GBM に焦点をあてる）の予後が近年の各種がん治療法の進歩を以てしても劇的な改善をみないのは、発生母地が中枢神経系であることとその特異な細胞浸潤能にあるといえる。すなわち手術で摘出可能な部位以外に癌細胞が拡散しやすく、それが再発母地となるのである。それゆえ GBM の治療法の確立にはその浸潤様式の理解とそれを基にした戦略を立てることが必要不可欠となる。

癌細胞の浸潤を促進する因子は様々に研究されているが、とりわけ GBM において知見が集積しているのは低酸素環境であろう。低酸素により hypoxia inducible factor (HIF) と呼ばれる転写因子が癌細胞内で安定化することで浸潤に要する種々のタンパク質発現を誘導し、結果として癌細胞浸潤を促進する。実際に、GBM の特徴的な病理所見である pseudopalisading（血管閉塞に起因する低酸素環境から GBM 細胞が退避するために見られると考えられている）では HIF の核内集積が顕著である。その一方で、細胞が動くためには細胞骨格の制御が必要となるはずであるが、GBM の低酸素応答性浸潤におけるその制御の詳細は不明であった。そこで我々は『低酸素』と『細胞骨格の調整』を結びつける因子があるのではないかと仮説をたて、検

証することとした。

研究成果の内容

図A, Bに仮説と検証手法の要約を示す。GBM組織あるいは細胞において低酸素環境に応答する遺伝子群の中から共通項を抽出し、さらにそこからタンパク質モチーフ予測ソフトを用いて細胞骨格調節に係るモチーフ（例えば SH3-binding motif など）を有するタンパク質を抽出するという2ステップの解析を行った。その結果、Cyclin G2というタンパク質がヒットした。Cyclin G2は図Cに示す通り、細胞骨格調節に重要とされる各種推測モチーフを有しており、実際に in vitro の低酸素環境下で培養された GBM 細胞株で発現上昇することが確かめられた。さらに推測された細胞骨格調節関連モチーフのいずれも実際に有効なモチーフであることが各種生化学的な解析により明らかになった。

では Cyclin G2 はどのように細胞骨格を制御しているのだろうか？このメカニズムを考察する前に、Cyclin G2 が発現上昇すると GBM 細胞の浸潤を促進することを、GBM 細胞株を用いて検証した。非常に興味深いことに、Cyclin G2 の過剰発現はそれ単体で通常酸素環境下においても細胞移動能を促進すること

がわかった（受賞論文参照）。さらに Cyclin G2を過剰発現させた細胞の形態を観察すると、Cyclin G2が細胞膜 ruffle と呼ばれる細胞移動の先端に集積していることがわかった。この ruffle 形成は細胞移動・浸潤に重要であることが知られており、各種細胞骨格およびその関連因子が関与している。それらのうち特に研究が進んでいる因子として、Dynamin, Cortactin が知られており、細胞骨格制御因子として多くの報告がなされている。

そこで筆者らは、Cyclin G2 と Dynamin, Cortactin が GBM 細胞内で共局在するかどうかを検討した。Cyclin G2 と Dynamin, Cortactin は細胞内特に ruffle においてよく共局在しており、これらは複合体を形成していることがわかった（受賞論文参照）。さらに興味深いことに、Cyclin G2 の発現を減少させると Cortactin の膜近傍への集積が減少するとともに、ruffle の形成が抑制されることがわかった。これらのことは、Cyclin G2 が Cortactin の機能あるいは ruffle 集積に重要であることを示している。

Cortactin が ruffle 形成に関与する際に重要となる因子として、Cortactin のチロシンリン酸化が知られて

いる。次に筆者らは、Cyclin G2 が Cortactin のチロシンリン酸化に影響を与えるかどうかを確かめることにした。Cortactin は低酸素によりチロシンリン酸化が誘導される（受賞論文参照）。このリン酸化は EGFR の kinase 阻害剤である Erlotinib では抑制されないが、Src family kinases 阻害剤である Dasatinib では抑制されることから、Src family kinases (SFK) が Cortactin のチロシンリン酸化の責任因子であることがわかる。大変興味深いことに、GBM 細胞株内において Cyclin G2 を過剰発現させると、通常酸素環境下でも、Cortactin のチロシンリン酸化が促進されることがわかった。このリン酸化は上記同様 Dasatinib によって阻害される。

Cyclin G2 は図 C で示した通り、SH2 domain-binding motif および SH3 domain-binding motif を有すると予測されている。前者は SFK などの SH2 domain を有するタンパク質との結合に、後者は Cortactin などの SH3 domain を有するタンパク質の結合にそれぞれ必要とされることが推測される。紙面の都合で割愛するが、生化学的検証によって Cyclin G2 におけるこれらの motif は、ともに SFK および Cortactin との結合に必

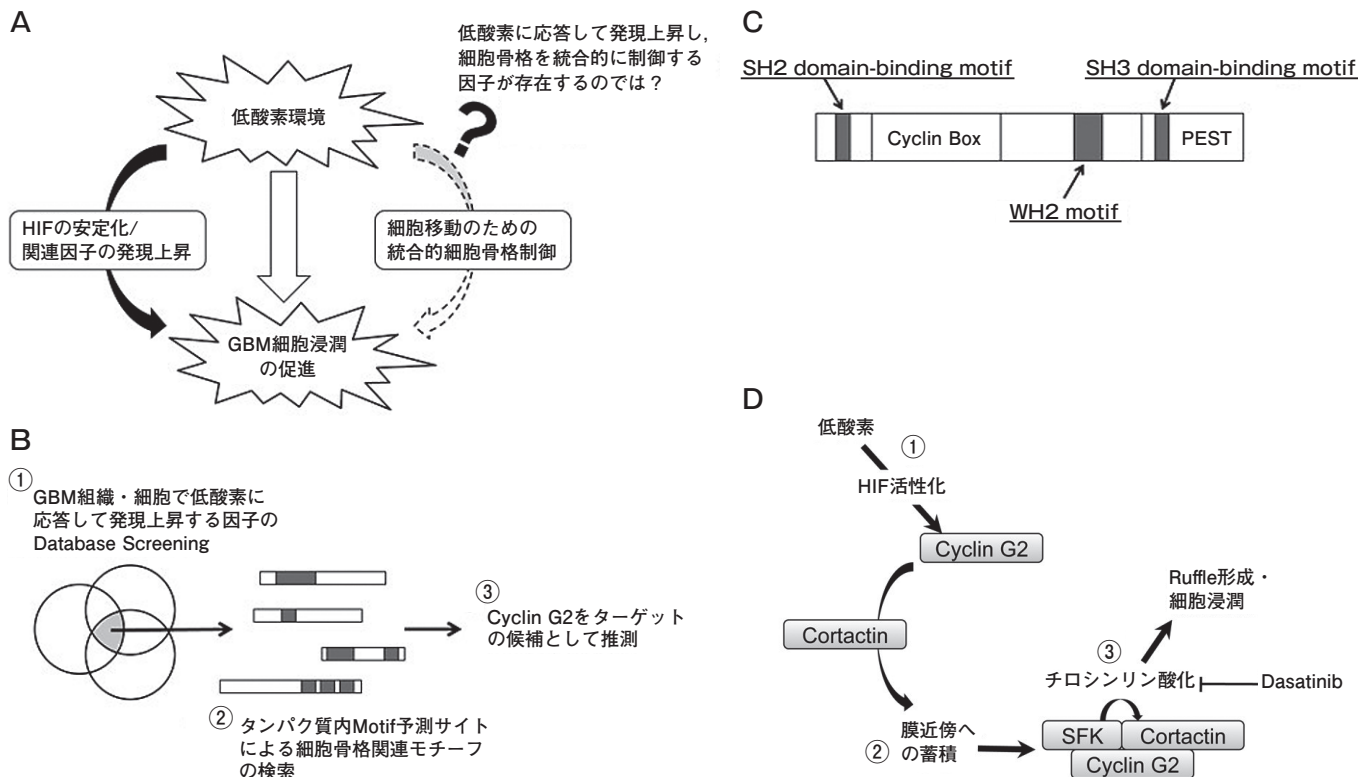


図 低酸素環境における GBM 細胞浸潤機序

要であり、これらの結合が SFK を介した Cortactin のチロシンリン酸化に重要な役割を果たすことがわかった（受賞論文参照）。

以上、GBM における低酸素誘導性細胞浸潤における Cyclin G2 の役割をまとめると図 D のようになる。
①低酸素により HIF が活性化し Cyclin G2 の発現が上昇する。②発現上昇した Cyclin G2 は Cortactin と結合し膜近傍へ集積する。③ Cortactin が膜近傍で SFK によりチロシンリン酸化されることで ruffle 形成を促進する。一連の過程において Cyclin G2 は SFK と Cortactin とを会合させることで ruffle 形成および後続する細胞浸潤を統合的に制御していることが明らかとなった。

研究成果の意義

前述の通り、Cyclin G2 によって制御される GBM 細胞の浸潤には SFK による Cortactin のチロシンリン酸化が深く関与しており、このリン酸化は Dasatinib によって抑制されることがわかる。実際に Dasatinib は Cyclin G2 によって誘導される細胞移動を in vitro で抑制し、低酸素によって誘導される GBM 細胞の脳内浸潤を in vivo で抑制することがわかった（受賞論文参照）。これらの知見は GBM 制圧に向けた戦略を立てる際の選択肢を拡げることには寄与すると思われる。

今後の展開ならびに展望

Cyclin G2 の機能はまだまだ不明な点が多い。その

名の通り、細胞周期関連因子として同定された Cyclin G2 であるが、筆者らの論文やその他の既報で示唆されている通り、細胞骨格にも影響を与えている。今後の研究としては、Cortactin との関連の他に、Dynamamin との相互作用についても解析する余地があるように思われる。また、脳腫瘍以外においても Cyclin G2 の細胞周期以外の報告が増えてきている。我々が、細胞周期のみに関連する遺伝子として考えていた概念を根本的に覆すものと思われる。今後、このような他の機能として同定されていた遺伝子の新たな働きを発見することにより、GBM の新たな治療へと発展させていきたいと思う。

謝 辞

本研究は筆者が ART プログラムによる卒後臨床研修で岡山大学病理診断科を履修している際に着想されました。研究遂行にあたり柳井広之教授、田中健大助教両氏の御指導・御協力がなければ本研究は完遂されていなかったと思います。この場を御借りして両氏に心より深謝申し上げます。また、要所要所での確かなアドバイスを下さった岡山大学細胞生理学教室の皆様、さらに ART プログラム大学院生・研修医として時に藻掻いていた私を温かく見守って下さった岡大病院卒研関連の先生に厚く御礼申し上げます。

平成27年1月受理
〒700-8558 岡山市北区鹿田町2-5-1
電話：086-235-7105 FAX：086-235-7111
E-mail：hmichiue@md.okayama-u.ac.jp